

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Kopi Robusta

Kopi termasuk dalam famili tanaman Rubiaceae, genus *Coffea*. Masyarakat telah mengenal 66 spesies kopi. Jenis kopi yang ditanam di dunia 70 % adalah arabika, 26 % adalah robusta dan 4 % adalah jenis kopi lainnya. Kopi robusta jarang ditanam dikarenakan kandungan kadar kafein yang sangat tinggi dan mengandung asam klorogenik yang tinggi pula. Kondisi itulah yang mengakibatkan rasa kopi tersebut lebih pahit (Handayani, 2016).

Ketinggian yang sesuai untuk menanam kopi adalah di atas ketinggian 500 m di atas permukaan air laut. Ketinggian yang terbaik untuk tumbuh kopi robusta berada di ketinggian 680 - 700 m di atas permukaan air laut. Tanaman kopi Indonesia cenderung ditanam kopi robusta, dikarenakan kopi arabika memerlukan ketinggian yang lebih tinggi diatas 700 m diatas permukaan air laut untuk mendapatkan hasil yang baik (Bambang *et al.*, 2010).

Curah hujan 1500 -2500 mm per tahun dengan suhu rata-rata 15-25°C. Kopi robusta melakukan penyerbukan silang. Penyerbukan silang dapat berlangsung jika serbuk sari berasal dari tanaman kopi berjenis lain (Bambang *et al.*, 2010).

Karakteristik kopi robusta memiliki panjang batang dan tumbuh hingga 2 - 5 m, memiliki akar tunggang dengan warna kuning muda, daun berbentuk bulat telur dengan ujung agak meruncing, memiliki permukaan atas daun mengkilat, tepi daun rata, pangkal daun yang tumpul, panjang daun 5 -15 cm, dengan lebar

4,0-6,5 cm, tulang daun menyirip dan daun berwarna hijau (Najiyati dan Danarti, 2012). Daun muda kopi robusta dapat dilihat pada Gambar 1 (Syafaruddin *etal.*,2014)



Gambar 1. Daun Muda Kopi Robusta.

Varietas kopi robusta yang ditanam di Indonesia adalah klon BP 42, BP 234, BP 288, BP 358, BP 409, BP 234, BP 436, BP 534, BP 936, BP 939 dan SA 203. Varietas tersebut dilihat dari sifat argonomi yang meliputi perawakan percabangan, bentuk daun dan warna buah, buah, biji, saat pembungaan, dan produktivitas (kg kopi/biji/ha/th) (Bambang *et al.*, 2010).

Luas tanaman kopi robusta di Indonesia tahun 2017 sebesar 698.493 Ha (Crop *et al.*, 2015). Luasan tersebut tersebar dibeberapa lokasi (Tabel 1).

Tabel 1. Daerah persebaran Kopi Robusta di Indonesia

No	Propinsi	Luasan (Ha)
1.	Sumatera	482.523
2.	Jawa	110.820
3.	Nusa Tenggara	54.612
4.	Kalimantan	13.361
5.	Sulawesi	35.431
6.	Maluku + Papua	1.746

B. Keanekaragaman atau Variasi Genetik Tanaman

Keanekaragaman genetik menunjukkan apakah terdapat variasi genetik yang diwariskan di dalam populasi atau di antara populasi. Keragaman genetik tanaman dapat berubah berdasarkan jarak waktu dan ruang. Besarnya keanekaragaman tergantung populasi individu yang ada. Variasi dapat terjadi antara populasi - populasi maupun individu - individu dalam satu populasi atau geografis (Rao dan Hodgkin, 2002).

Keanekaragaman genetik pada tingkat tanaman dapat dianalisis dalam kajian klon, populasi, kajian plasma nutfah dan spesies. Keanekaragaman genetik sangat penting untuk pengelolaan sumber daya genetik yang efektif. Keanekaragaman genetik tanaman memiliki peranan penting dalam pemanfaatan tanaman pada masa depan (Chateil *et al.*, 2013).

Secara konvensional keanekaragaman dapat dilihat dengan mengukur variasi sifat fenotipe, sifat agronomi dan karakter morfologi. Cara tersebut tidak dapat dijadikan sebagai patokan dikarenakan dalam suatu spesies terdapat kekhasan materi genetik. Oleh sebab itu, diperlukan analisis lanjutan dengan menggunakan teknik molekuler.

Kopi robusta salah satu contoh tanaman yang melakukan penyerbukan silang karena penyerbukannya bergantung pada tanaman yang tumbuh di sekitar tanaman kopi. Kopi robusta memiliki pola penyebaran genotip yang beragam dan memiliki berbagai macam karakteristik fenotip. Jenis kopi ini memiliki spesies diploid dengan $2n = 2x = 22$ (Bambang *et al.*, 2010).

Keanekaragaman kopi robusta di Indonesia pun beragam dikarenakan pola penyerbukan tanaman kopi itu sendiri sehingga terdapat 11 klon yang ditanam dengan cita rasa yang berbeda pula. Penelitian tentang keanekaragaman kopi cenderung pada jenis kopi arabika sehingga data tentang kopi robusta jarang ditemukan.

Keanekaragaman suatu spesies disimpulkan tinggi jika persentase polimorfik menunjukkan angka diatas 50 % sedangkan keanekaragaman rendah jika persentase polimorfik menunjukkan angka dibawah 50 %. Pita polimorfik yang didapatkan menggambarkan keadaan genom tanaman. Pita polimorfik semakin tinggi maka keragaman genetiknya semakin tinggi pula (Shaw, 1986).

Contoh aplikasi dalam keanekaragam genetik pada kopi robusta adalah menyeleksi dan mengembangkan beberapa genotipe dengan teknik sambung tunas plagiotrop yang bertujuan untuk merehabilitasi populasi kopi rubusta berdasarkan bijinya dengan menggunakan 15 genotip. DNA diamplifikasi menggunakan 34 marka *Simple Sequence Repeats* (SSR) dan didapatkan 22 marka menunjukkan tingkat polimorfisme yang tinggi. Alel per lokus sekitar 4 (Syafaruddin *et al.*, 2014).

Keragaman genetik antar populasi dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain pencampuran secara alami atau memerlukan bantuan manusia. Secara alami terjadi dikarenakan proses penyebaran serbuk sari atau melalui biji. Percampuran melalui bantuan manusia terjadi karena domestikasi. Aliran gen dikaitkan dengan jarak geografis populasi yang menyatakan bahwa semakin

dekat jarak geografis maka jarak genetik semakin dekat (Nurtjahjaningsih *et al.*, 2014).

C. Marka Molekuler Untuk Kajian Populasi Genetik

Sumber DNA tumbuhan terdapat pada DNA mitokondrial, DNA nukleus dan DNA kloroplas. DNA kloroplas merupakan sumber DNA yang baik untuk dilakukan isolasi DNA. DNA kloroplas terdapat pada tanaman hijau yang dapat melakukan proses fotosintesis (Soltis *et al.*, 1992). Identifikasi polimorfik DNA pada genom dapat dilakukan dengan metode:

1. *Randomly Amplified Polymorphic DNA*

Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) adalah metode untuk mengidentifikasi polimorfisme DNA pada genom secara cepat dan efisien. RAPD berguna untuk melihat keanekaragaman genetik, hubungan kekerabatan, peta genetik, dan sidik jari DNA (Najiyati dan Danarti, 2012).

Pengujiannya menggunakan prinsip dasar pada amplikasi DNA genom dengan menggunakan primer tunggal pendek akan memilih secara acak daerah genom pada urutan DNA untuk diamplifikasi dan dapat ditemukan ukurannya DNA dengan primer RAPD berkisar 0,1 dan 3 kb. Primer yang digunakan biasanya berukuran 10 bp. Primer akan berikatan dengan bagian komplementernya (Rafalski *et al.*, 1994).

RAPD dapat digunakan untuk mendeteksi polimorfisme DNA. RAPD digunakan sebagai marker genetik dan menentukan hubungan kekerabatan pada tanaman. RAPD termasuk dalam marka dominan sehingga tidak perlu

menentukan *band* tersebut tunggal pada individu homozigot atau heterozigot (Basyuni *et al.*, 2012)

Penentuan hubungan kekerabatan dapat dilakukan melalui *scoring* pita amplifikasi. Klasifikasi “1” terdapat pita amplifikasi sedangkan 0 apabila tidak terdapat pita hasil amplifikasi. Pita dapat dikatakan polimorfik jika dalam lokus terdiri dari lebih dari satu macam pola pita yang berbeda, sedangkan pita monomorfik yang terdiri dari satu bentuk pita pada seluruh individu (Basyuni *et al.*, 2012).

RAPD dapat membantu dalam berbagai analisis diantaranya adalah pemetaan genetik, menentukan populasi dan evolusi genetika, pemuliaan tanaman dan hewan (Bardakci, 2001). Teknik ini di Indonesia digunakan untuk pemuliaan tanaman perkebunan antara lain tanaman jambu mete, lada dan kelapa sawit (Bursatriannyo, 2016).

RAPD memiliki kelebihan antar lain adalah cepat dalam analisis, pengerjaan mudah, murah, menghasilkan pita polimorfisme pita DNA dan dapat menggunakan primer acak untuk menganalisis genom semua organisme (Suharsono, 2008).

2. Penanda molekuler lain

Penanda molekuler lain yang pernah digunakan untuk penelitian genetika kopi adalah *Inter-simple sequence repeat* (ISSR) dan *Simple Sequence Repeat* (SSR). *Restriction fragment length polymorphisms* (RFLPs) digunakan dalam studi genetika berbasis hibridisasi. RFLP bergantung berdasarkan variasi dalam panjang fragmen DNA. *Amplified*

fragment length polymorphisms (AFLPs) adalah teknik gabungan dengan RFLPs yang menggunakan enzim restriksi untuk memotong DNA pada urutan tertentu. *Simple Sequence Repeat* (SSR) atau *Microsatellite* adalah teknik yang menghasilkan tingkat polimorfik antara dan intraspesifik (Govindaraj *et al.*, 2015).

D. PCR

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan salah satu teknik sintesis dan amplikasi sekuens DNA secara *in vitro*. Teknik ini merupakan amplikasi segmen DNA dalam waktu yang singkat dan menghasilkan jutaan kali kopi. PCR dapat divariasi dengan komponen PCR yaitu konsentrasi primer, dNTP, templat DNA, garam buffer ($MgCl_2$ dan KCl) (Uslan dan Pharmawati, 2015).

Tahapan utama dari PCR adalah denaturasi, *annealing* dan *extension*. Denaturasi merupakan proses untai DNA ganda terpisah menjadi DNA untai tunggal. Tahap kedua *annealing* adalah proses penempelan primer oligonukleotida ke DNA beruntai tunggal, dan tahap terakhir adalah *extension* yaitu proses mensintesis replikasi DNA.

Aplikasi yang menggunakan PCR adalah kajian forensik yang dapat menentukan tersangka dalam kasus kriminal, menentukan pelaku dalam kasus paternal, selain itu untuk kajian evolusi molekuler, deteksi mutasi dalam segala aspek dan cloning (Indrawan *et al.*, 2007).

E. Hipotesis

1. Keanekaragaman genetik populasi kopi robusta (*Coffea canephora*) berdasarkan 3 lokasi Lawu, Kemuning dan Turgo adalah rendah.
2. Kekerabatan antara populasi kopi robusta di Lawu dan Kemuning memiliki jarak yang dekat sedangkan dengan Turgo memiliki jarak yang jauh.

